

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ
О.О.БОГОМОЛЬЦЯ**

**ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА АНАЛІТИЧНОЇ, ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ**

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему «Оптимізація методики кількісного визначення сполук мангану
у дієтичних добавках спектрофотометричним методом аналізу»**

Виконала: здобувач вищої освіти 3-го курсу, групи
128Б3А напрямку підготовки 226 «Охорона
здоров'я»

освітня програма «Фармація»

Добровольська Олена Олегівна

Керівник: кандидатка педагогічних наук, доцентка
Чхало Оксана Миколаївна

Рецензент: докторка біологічних наук,
завідувачка кафедри фармакогнозії та ботаніки,
професорка

Мінарченко Валентина Миколаївна

Київ – 2025

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень		4
Вступ.		5
РОЗДІЛ 1. Манган, методи визначення.		8
1.1	Роль мангану в організмі та його застосування.	8
1.2	Механізм дії та метаболізм іонів мангану.	10
1.3	Фізико-хімічні властивості мангану цитрату	11
1.4	Методи ідентифікації та кількісного визначення іонів мангану.	12
1.5	Спектрофотометричний метод аналізу.	16
РОЗДІЛ 2. Експериментальна частина.		18
2.1.	Матеріали та методи.	18
2.1.1.	Мета дослідження.	18
2.1.2.	Об'єкти дослідження.	18
2.1.3.	Посуд та обладнання.	19
2.1.4.	Реактиви.	19
2.1.5.	Приготування розчинів.	20
2.2.	Методика спектрофотометричного дослідження.	21
РОЗДІЛ 3. Результати та їх обговорення.		22
3.1.	Побудова спектру поглинання, визначення оптимальної довжини хвилі спектрофотометричних визначень.	22
3.2.	Побудова градуовального графіка. Перевірка методики на лінійність.	23
3.3.	Кількісне визначення мангану цитрату у дієтичних добавках. Часткова валідація методу.	25
3.3.1.	Перевірка методики на специфічність.	26
3.3.2.	Оцінка прецизійності та робастності.	26
3.3.3.	Правильність.	29

	Висновки.	31
	Список використаних джерел.	32
	Додатки.	34
	Summary.	41

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ДД – дієтична добавка

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ДФУ – державна фармакопея України

ФСЗ – Фармакопейні стандартні зразки

Ph.Eur. – European Pharmacopoeia

НМУ – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

ЛЗ – лікарський засіб

мг – міліграм

ІЧ спектр – інфрачервоний спектр

мл – мілілітр

нм – нанометр

Т. кип. – температура кипіння

Т. пл. – температура плавлення

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

С⁰ – градуси Цельсія

ВСТУП

Манган є одним із самих поширених елементів на Землі [1]. В природі у вільному стані він не зустрічається, але в земній корі знаходиться у кількості 0,09%. В природі найпоширеніша сполука $MnO_2 \cdot nH_2O$ (піролюзит). Манган дуже важливий для живих організмів, як мікроелемент бере участь в ряді біологічних процесів [2], а добова потреба в ньому складає декілька міліграм (5-7 мг) що, зазвичай, надходить з харчуванням. До продуктів, в яких міститься найбільша кількість цього мікроелемента, відносяться грецькі горіхи, зернові, банани та інші.

Манган володіє доведеною біологічною роллю в енергетичному та макромолекулярному обміні, в процесах кровотворення та формування кісток, гомеостазі глюкози, регуляції функціонування гормонів та нервової системи, процесах регенерації та багатьох інших біологічних процесах організму [3].

Недостатня кількість мангану в організмі призводить до багатьох проблем. Порушуються нормальний розвиток кісток та хрящів, толерантність до глюкози, нормальний процес загоєння ран, метаболізм вуглеводів та жирів, спостерігаються затримка росту та низька фертильність [4].

Але сполуки мангану дуже токсичні і є небезпека отруєння ними. При разовому вживанні летальна доза становить біля 15 г. При цьому подразнюються слизові оболонки очей та дихальних шляхів, порушується кровообіг, спостерігається головний біль, задуха та слабкість [2]. Дуже чутливим до передозування манганом є головний мозок, викликаючи нейроповедінкові та нейрофізіологічні ефекти, неврологічний синдром, який схожий на хворобу Паркінсона. Він може пригнічувати синтез АТФ завдяки пригніченню функцій F1ATФ-ази, а при вищих концентраціях завдяки пригніченню функціонування мітохондрійного комплексу I [3]. Також отруєння манганом призводить до негативного впливу на імунну систему, нервову та гормональну системи, призводить до порушення метаболізму

жирів та вуглеводів, а також порушення гомеостазу, викликає гепатотоксичність та оксидативний стрес. Тому вивчення точних, селективних, швидких, простих та чутливих методів кількісного визначення сполук мангану має велике значення.

Актуальність: Пошук нових методик та оптимізація відомих методик кількісного визначення сполук мангану в дієтичних добавках.

Мета: оптимізувати методику кількісного визначення сполук мангану у дієтичних добавках спектрофотометричним методом аналізу.

Завдання:

1. Проаналізувати літературні дані щодо ролі та застосування сполук мангану, їх фармакологічні та фізико-хімічні властивості, метаболізм та механізм дії.
2. Провести аналіз методики ідентифікації та кількісного визначення сполук мангану.
3. Користуючись даними проведених досліджень оптимізувати методику кількісного визначення сполук мангану у дієтичних добавках Mn-Zyme (Biotics Research) та Manganese (Pure Encapsulations) спектрофотометричним методом аналізу.
4. Здійснити часткову оцінку валідаційних характеристик методики кількісного визначення йонів мангану у дієтичних добавках спектрофотометричним методом аналізу.

Методи дослідження: бібліосемантичний, спектрофотометрія.

Предмет дослідження: Спектрофотометрія та її застосування для кількісного визначення йонів мангану у складі дієтичних добавок.

Практичне значення отриманих результатів: Запропонована альтернативна методика кількісного визначення йонів мангану у дієтичних добавках.

Апробація результатів дослідження. Результати дослідження були представлені на V Науково-практичній конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта», присвяченій пам'яті доктора хімічних наук, професорки Ніни Павлівни Максютіної (до 100-річчя від дня народження) 28-29.01.2025 (Додаток 5).

Структура роботи. Робота включає Таблиць -5, Рисуноків – 4, Додатків – 5, загальний обсяг 42 сторінок.

Розділ 1. Манган, методи визначення.

1.1. Роль мангану в організмі та його застосування.

Манган (Mn) – це один із важливих мінералів для здоров'я людини. Але він є і потенційно токсичним. І досі вчені продовжують досліджувати як наслідки його дефіциту, так і токсичну дію на живі організми. Назва мангану походить від грецького «магія» і він необхідний для перебігу цілого ряду фізіологічних процесів, входить до складу великої кількості ферментів та є активатором інших ензимів, які потрібні для метаболізму вуглеводів, холестерину, амінокислот, синтезу глюкози в процесі глікогенезу [5].

Нестача мангану призводить до порушення нормального розвитку скелета у багатьох тварин, оскільки він є кофактором тих ферментів, які потрібні для синтезу протеогліканів, що необхідні для формування хрящових та кісткових тканин [6]. Манган необхідний для активації фермента пролідази, який потрібен для отримання амінокислоти пролін, яка, в свою чергу, забезпечує утворення колагену в клітинах шкіри людини. Тому манган відіграє важливу роль у загоєнні ран, оскільки цей процес є досить складним і потребує підвищеного виробництва колагену. При недостатчі ж пролідази у людини виникають проблеми зі здоров'ям, порушується процес загоєння ран та виникає аномальне явище метаболізму мікроелемента мангану.

Багато ферментів, які активуються манганом, відіграють важливу роль в метаболізмі вуглеводів, амінокислот, холестерину. Фермент піруваткарбоксилаза, у складі якого є манган, та фермент фосфоенолпіруваткарбоксикиназа, який активується манганом, відіграють величезну роль в глікогенезі. Іншого ферменту, аргінази, який містить манган, потребує печінка для детоксикації амоніаку, що утворюється при метаболізмі амінокислот. Глутамінсинтетаза, фермент, що активується манганом, перетворює глутамат в глутамін [6].

Недостатня кількість мангану в організмі людини може бути причиною ряду хронічних захворювань або мати вплив на їх розвиток, хоча на даний час потрібні додаткові дослідження для визначення, чи має вплив недостатня кількість мангану в харчуванні людини на певні хвороби.

Дослідження, що проводились раніше, показали, що у жінок з остеопорозом спостерігалось зниження концентрації мангану в плазмі або сировотці в порівнянні з жінками без остеопорозу. Японськими вченими було виявлено, що більш високе вживання мангану з харчування пов'язано з нижчим ризиком розвитку діабету другого типу саме у жінок, на відміну від чоловіків. Але, хоча манган відіграє певну роль в метаболізмі глюкози, досі не визначено, чи може більш високий рівень цього мікроелементу покращити толерантність до глюкози та захистити від розвитку цукрового діабету другого типу.

Також є дослідження щодо зв'язку між метаболізмом мангану та епілепсією у людини і ці дослідження заслуговують на подальше вивчення, оскільки виявлено, що концентрація мангану у крові людей, що страждають на епілепсію, нижча, ніж у людей без епілепсії.

Щоб визначити оптимальну норму денного споживання мангану вчені підраховали, що в середньому люди зі здоровим способом життя, у яких не було виявлено дефіциту цього мікроелементу, споживали з харчуванням близько 2,3 мг/день чоловіки та близько 1,8 мг/день жінки. Люди, які дотримуються вегетаріанської дієти, можуть споживати і до 7 мг/день мангану. Багаті джерела мангану – це бобові, горіхи, цільне зерно, чорний чай, листові овочі, банани, пластівці [6].

Деякі продукти можуть пригнічувати засвоєння мангану, наприклад, ті, що містять багато щавлевої кислоти (капуста, шпинат) або ті, що містять багато фітинової кислоти (соєві продукти, горіхи, боби). Чай, який сам багатий на манган, містить таніни, які також трохи знижують засвоєння

цього мікроелемента. Виявлено також, що вживання таких мінералів як кальцій, залізо, фосфор, призводить до обмеженого утримання мангану.

Але не потрібно забувати про токсичність мангану, яка може призвести до певних неврологічних проблем для людей, які вдихають пил мангану (зварювальники, шахтарі) із симптомами, як у хворобі Паркінсона – тремор, спазми м'язів лица та труднощі при ходьбі. Цей синдром називають манганізмом [3]. Також може виникнути запалення легень з такими симптомами як кашель, зниження функції легень.

1.2. Механізм дії та метаболізм іонів мангану.

Манган всмоктується в тонкій кишці, після чого певна частина його залишається вільною, але більша кількість зв'язується із трансферином, альбуміном, а також з альфа-2-макроглобуліном. Засвоюється цей мікроелемент печінкою та іншими тканинами, але механізм цього процесу недостатньо вивчений [4].

В організмі людини є близько 10–20 мг мангану, з яких 25–40% міститься в кістках. Він також є в печінці, нирках, підшлунковій залозі та мозку. Концентрація цього мікроелемента в тканинах підтримується стабільною організмом через регуляторний контроль поглинання та виведення. Більше як 90% абсорбованого мангану виводиться через жовч з калом, а незначна кількість реабсорбується. Дуже мало цього елемента виділяється з сечею [4].

Засвоєння мангану з харчів зменшується при збільшенні в них заліза. Абсорбція мангану в кишках підвищується при дефіциті заліза, а збільшення рівню феритину (заліза) пов'язане із зменшенням абсорбції мангану. Як правило, у чоловіків спостерігається менше поглинання мангану у порівнянні з жінками, що може пояснюватись більшим депо заліза у чоловіків в

порівнянні з жінками. Відомо також, що при дефіциті заліза збільшується ризик накопичення мангану в мозку [4].

Біологічна дія мангану обумовлена його здатністю до утворення комплексних сполук з оксигенвмісними, а також з нітрогенвмісними лігандами ферментів, вітамінів, гормонів. Саме тому він має вплив на обмін жирів, білків та вуглеводів, а його недостатня кількість викликає відкладання жиру в організмі та призводить до патологічного ожиріння. Манган також впливає на мінеральний обмін, його сполуки допомагають засвоєнню таких елементів як фосфор, йод і кальцій, беруть участь у синтезі гормонів щитоподібної залози. Сполуки мангану в поєднанні з солями купруму прискорюють процеси кровотворення [1].

До складу дієтичних добавок найчастіше входить манган у формі цитрату або хелату.

1.3. Фізико-хімічні властивості манган цитрату

Молекулярна формула: $C_{12}H_{10}Mn_3O_{14}$

Манган цитрат утворює кристалогідрати складу $Mn_3(C_6H_5O_7)_2 \cdot nH_2O$, де $n = 9$ і 10 [7]:

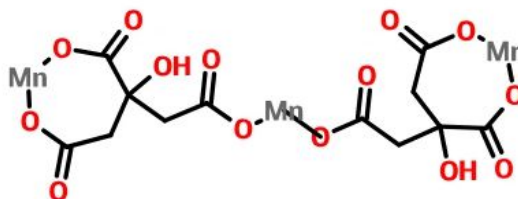


Рис. 1. Манган цитрат у вигляді кристалогідрату складу $Mn_3(C_6H_5O_7)_2 \cdot nH_2O$

Манган цитрат декагідрат розчинний у воді [8].

Точка плавлення декагідрату мангану становить 100-105 градусів.

Марган цитрат декагідрат - це хелатна мінеральна добавка, яка широко використовується в промисловості для годування тварин і харчування людей. Являє собою кристалічний порошок, який розчиняється у воді і має світло-рожевий колір.

Щільність марган цитрату декагідрату складає 1,44 г/см³.

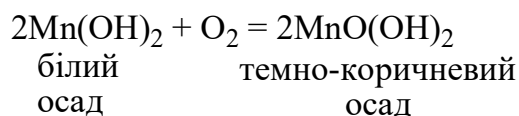
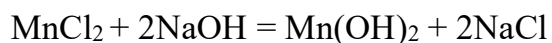
Це порошок без запаху та смаку, який легко використовувати та зберігати. Він негорючий і нетоксичний, тому він безпечний для використання в різноманітних сферах застосування. Це стабільна сполука, яка може зберігатися тривалий час не втрачаючи якості.

Манган цитрат декагідрат використовується в промисловості кормів для худоби і птиці. Також він використовується як дієтична добавка для підтримки метаболізму, здорових кісток, а також функції ферментів, також використовується у фармацевтичній промисловості як компонент різноманітних лікарських засобів.

1.4. Методи ідентифікації та кількісного визначення іонів мангану.

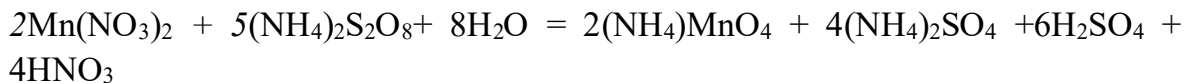
Йони мангану ідентифікують у розчині за допомогою наступних реакцій [9]:

- 1) Йони мангану при реакції з розчинами лугів утворюють осад білого кольору, який на повітрі буріє через окиснення киснем з повітря.

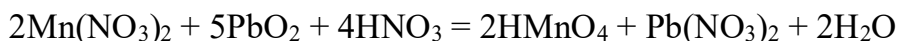


- 2) Реакція з окисниками. Йони мангану при реакції з окисниками ((NH₄)₂S₂O₈, PbO₂, NaBiO₃) окислюються до MnO₄⁻ забарвлюючи розчин у малиново-фіолетовий колір:

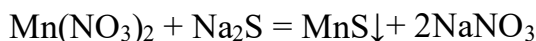




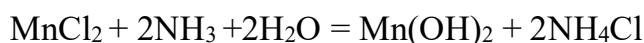
Реакцію проводять у присутності каталізатора, в ролі якого виступають йони Ag^+ .



- 3) Дія сульфідів. Йони мангану при реакції з сульфідами утворюють осад тілесного кольору:



- 4) Дія розчину NH_3 . Йони мангану при реакції з розчином амоніаку утворюють осад білого кольору.



- 5) Дія розчину $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Cl}$. Йони мангану при реакції з розчином $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Cl}$ проявляють відновні властивості згідно реакції



Кількісне визначення йонів мангану можна проводити наступними методами:

Гравіметричне визначення у вигляді MnS , Mn_3O_4 , MnSO_4 , $\text{Mn}_2\text{P}_2\text{O}_7$ та інших сполук, але ці методи застосовуються досить рідко.

Титриметричні методи аналізу:

1) Комплексонометричне титрування (згідно з Європейською фармакопеею) [10]. До аналізованого розчину мангану (II) додають аскорбінову кислоту, амонійний буферний розчин, індикатор хромоген чорний та титрують розчином комплексону (III) (Трилону Б) до зміни кольору індикатора з фіолетового на синій.

2) Перманганатометричне титрування відбувається згідно реакції



Щоб реакція протікала повністю до реакційної суміші вводять ацетатний буферний розчин та та цинк оксид. Визначенню мангану цим методом заважають йони Cr(III), Ni(II), Co(II) и SO_4^{2-} .

В іншому варіанті перманганометрії титрують сполуки Mn(II) розчином KMnO_4 до Mn(III) в фторидному середовищі. При цьому кінцеву точку титрування визначають або по появі забарвлення візуально, або фотометрично при надлишку калій перманганату.

3) Метод броматометричного титрування.

Для визначення мангану використовують непряме титрування, в основі якого лежить утворення поганорозчинного осаду мангану оксихіноліату або мангану антралінату, який розчиняють у хлоридній кислоті та титрують розчином калій бромату в присутності індикатора метилового червоного.

4) Методи, які засновані на окисненні Mn(II) до Mn(VII) та подальшому відновленні Mn(VII) до Mn(II). При цьому використовуються різні окисники, наприклад амоній персульфат, натрій вісмутат, калій періодат. В якості відновників використовують суміш натрій нітриту та натрій арсеніту або натрій тіосульфату. Кінець титрування встановлюється по зникненню рожевого забарвлення розчину та може бути встановлений фотометричним або потенціометричним методом.

5) Методи, які засновані на окисненні Mn(II) до Mn(VII) та подальшому титруванні Mn(VII) розчином натрію арсеніту або розчином солі Мора. В якості окисника використовують, наприклад, натрій вісмутат. Помилка методу складає 0,2%.

6) Маленькі кількості мангану (6 - 10 мкг) визначають потенціометричним титруванням надлишку Трилону Б, який не витратився на реакцію з Mn(II).

Амперометричні методи.

Титрування Mn(VII) розчином солі Мора базується на окисненні Mn(II) до MnO_4^- та подальшим його титруванням розчином солі Мора по струму

окиснення Fe(II) при потенціалі + 1,0 з платиновим електродом. Титрування можна проводити з одним та з двома індикаторними електродами. При використанні двох електродів точність і чутливість визначення значно зростає через різкого перегибу кривої титрування. Цей метод використовують для визначення мангану в присутності йонів Ni(II), Co(II), Fe(III).

Амперометричне титрування проводять також розчином комплексу III (ЕДТА) з амальгамованим срібним електродом, платиновим мікроелектродом, двома платиновими мікроелектродами або ртутним крапельним електродом. Титрують на фоні розчину оксалату лужного металу при потенціалі -1,75 В. Мінімальна кількість визначення мангану 3 мкг/л.

Фотометричні методи.

Визначення мангану за забарвленням йону MnO_4^- . Окиснення мангану проводять розчином амонію персульфату за температури кипіння в фосфатно-нітратному середовищі в присутності каталізатора. Перманганат-йон має два максимуми поглинання світла – при 525 нм та при 545 нм. Визначення мангану в присутності йонів Ni(II), Co(II), Fe(III) проводять по градууювальному графіку, який побудований для розчинів, що імітують склад досліджуваних розчинів.

В присутності Ti(IV) манган потрібно визначати окисненням Mn(II) до MnO_4^- перйодат-йоном, оскільки при використанні амоній персульфату з'являється жовте забарвлення пероксидного комплексу титану. Відносна похибка визначення мангану не перевищує 1%.

Визначення мангану по забарвленню пірофосфатоманганатної кислоти, яка утворюється в процесі окиснення Mn(II) розчином калію бромату на холоді в присутності пірофосфатної кислоти. Максимальне світлопоглинання спостерігається при 520 нм.

Визначення мангану (II) за його реакцією з формальдоксимом, в результаті якої утворюється червоно-коричневого комплекс з максимумом

світлопоглинання 455 нм. Недоліком даного методу є необхідність видалення окисників і органічних молекул в досліджуваному розчині [11].

1.5. Метод спектрофотометричного аналізу.

Спектрофотометричний метод аналізу (спектрофотометрія) - це фізико-хімічний метод аналізу, в основі якого лежить явище вибіркового поглинання речовиною монохроматичного світла з певною довжиною хвилі [12].

В даному методі проводиться вимірювання спектрів поглинання в різних областях спектра, а саме: інфрачервона (0,75- 300 мкм), ультрафіолетова (10-380 нм) та видима (380-750 нм). Спектр поглинання – це графічна залежність величини оптичної густини розчину від довжини хвилі. Кожен спектр має максимальне значення світлопоглинання, за значенням якого можна визначити, які саме речовини знаходяться в розчині, що досліджується. Спектрофотометричний метод аналізу можна використовувати для аналізу як одно-, так і багатокомпонентної системи. І визначати можна не лише забарвлені сполуки, які характеризуються світлопоглинанням у видимій області спектру, а також і безбарвні сполуки, які мають здатність поглинати світло в УФ- або ІЧ- області спектра.

Спектрофотометричні методи аналізу характеризуються високою чутливістю та вибірковістю, тому дозволяють визначати з досить великою точністю навіть дуже малі кількості речовин. Різними способами можна проводити кількісне визначення в спектрофотометрії, частіше використовують графічний методом та метод добавок. Оптичну густину досліджуваних розчинів вимірюють на спектрофотометрах по відношенню до чистого розчинника або розчину порівняння, який не містить речовину, яка визначається. Графічна залежність між величиною оптичної густини і концентрацією речовини, що визначається, підкоряється закону Бугера – Ламберта –Бера, у відповідності з яким величина оптичної густини розчину

(A або D) знаходиться у прямій залежності від концентрації речовини в розчині та товщини шару розчину, що поглинає.

$$A = K \cdot C \cdot l$$

A — величина оптичної густини

K — молярний коефіцієнт поглинання (коефіцієнт пропорційності);

C — концентрація речовини у розчині;

l — ширина кювети (товщина поглинаючого шару розчину) [13].

Для того, щоб визначити концентрацію речовини в розчині, який досліджується, необхідно виконати наступне:

– приготувати серію розчинів з відомою концентрацією досліджуваної речовини – серія стандартних розчинів;

– приготувати розчин порівняння, що не містить речовину, яка визначається;

– отримати спектр поглинання визначуваної речовини та визначити оптимальну довжину хвилі для подальших вимірювань і побудови градуювального графіка;

– виміряти оптичну густину приготовленої серії стандартних розчинів і побудувати градуювальний графік, що являє собою залежність оптичної густини розчинів від концентрації в них визначуваної речовини.

Після отримання градуювального графіка вимірюють оптичну густину розчинів з невідомою концентрацією та за градуювальним графіком визначають концентрацію речовини в досліджуваному розчині.

Розділ 2. Експериментальна частина.

Випускна кваліфікаційна робота (ВКР) виконана в НМУ імені О.О. Богомольця на кафедрі аналітичної, фізичної та колоїдної хімії.

2.1. Матеріали та методи.

2.1.1. Мета дослідження.

Оптимізація методики кількісного визначення сполук мангану у дієтичних добавках методом спектрофотометричного аналізу.

2.1.2. Об'єкти дослідження.

Об'єктами дослідження методики обрали дієтичні добавки Mn-Zyme, (виробник Biotics Research Corporation, США) та Manganese (виробник Pure Encapsulations, США). Дієтичні добавки реалізуються через мережу Інтернет в таблетках та капсулах та мають склад:

1) Mn-Zyme, (виробник Biotics Research Corporation, США). Склад: манган (глюконат і цитрат)– 10,0 мг, біологічно активна рослинна культура (спеціально вирощена біологічно активна рослинна культура, яка містить природним чином пов'язані фітохімічні речовини, в тому числі поліфенольні сполуки з СОД і каталази, зневоднена при низькій температурі для збереження пов'язаних з нею ферментних факторів), целюлоза, стеаринова кислота, харчова глазур, модифікована целюлозна камедь [14].

2) Manganese (Aspartate/Citrate), Pure Encapsulations [15] Склад: манган (аспаратат і цитрат)– 8,0 мг, целюлоза, вегетаріанська капсула (целюлоза, вода).



Рис. 2. Зразки дієтичних добавок, що містять манган цитрат.

2.1.3. Посуд та обладнання.

1. Мірний посуд (клас точності А) (Додаток 1).
2. Ваги лабораторні Mettler Toledo XS204.
3. Спектрофотометр Jenway 6305 (Додаток 3).
4. рН-метр (Додаток 3).

2.1.4. Реактиви.

1. Манган цитрат декагідрат, х.ч.
2. Вода очищена.
3. Розчин формальдегуду 40%
4. Гідроксиламіну хлорид
5. Розчин натрій гідроксиду 1 моль/л
6. Стандарт титр натрій едетату 0,1 моль/л
7. Металіндикатор еріохром чорний Т

8. Амоній хлорид х.ч.
9. Розчин NH_3 (приблизно 30%)
10. Натрій хлорид кристалічний.

2.1.5. Приготування розчинів

Випробуваний розчин готують наступним чином: подрібнену таблетку або капсулу зразка переносять у мірну колбу ємністю 100 мл, збовтують з 50-60 мл гарячої води протягом приблизно 15 хв, додають дистильовану воду до мітки та старанно перемішують. Отриманий розчин фільтрують через паперовий фільтр, при цьому перші 10 мл фільтрату відкидають.

Приготування розчину формальдоксиму (H_2CNOH).

На аналітичних терезах зважують 2 г гідроксиламіну хлориду, додають 1 мл водного розчину формальдегіду 40% - го та 50 мл дистильованої води, інтенсивно струшують до розчинення гідроксиламіну хлориду.

Приготування стандартного розчину Трилону Б (натрій едетату).

Вміст ампули фіксаналу (стандарт титру), що має концентрацію натрій едетату 1 моль/л, кількісно переносять в мірну колбу місткість 1 л та доводять до мітки дистильованою водою, старанно перемішують.

Розчин індикатора еріохрому чорного Т (приготування).

Зважують на лабораторних терезах 0,5 г еріохрому чорного Т та 50 г натрій хлориду кристалічного та розтирають суміш у фарфоровій ступці. Переносять в посуд з темним склом.

Приготування буферного розчину

20 г амоній хлориду розчиняють у 100 мл води, додають концентрований розчин NH_3 -100 мл, старанно перемішують і доводять об'єм розчину до 1 л дистильованою водою. Отриманий розчин має рН = 10,0.

Стандартний розчин манган цитрату та серія стандартних розчинів манган цитрату.

Щоб приготувати стандартний розчин манган цитрату зважують на аналітичних терезах 10 мг кристалогідрату манган цитрату, переносять у мірну колбу на 100 мл, додають дистильовану воду та перемішують до розчинення кристалів, доводять до мітки дистильованою водою та знову перемішують. Точну концентрацію манган цитрату в розчині визначають методом комплексонометричного титрування.

В приготовленому розчині концентрація манган цитрату становить 0,1 мг/мл.

Використовуючи отриманий стандартного розчину готують серію розчинів з концентраціями манган цитрату 0,002мг- 0,020 мг методом розведення:

Таблиця 1. Склад серії стандартних розчинів манган цитрату.

№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
С, мг	0,002	0,004	0,006	0,008	0,010	0,012	0,014	0,016	0,018	0,020

2.2. Методика спектрофотометричного дослідження.

Мірною піпеткою відбирають 5 мл розчину, що досліджується і переносять в мірну колбу ємністю 50 мл, додають 10 мл води дистильованої. Потім додають 1 мл розчину формальдоксиму та 3 мл розчину натрій гідроксиду з концентрацією 1 моль/л. Доводять об'єм розчину до мітки дистильованою водою. Приготовлений розчин забарвлюється у червоно-коричневий колір. Вимірюють оптичну густину розчину при довжині хвилі 455 нм. Розчин порівняння –розчин, який не містить речовину, що досліджується.

Розділ 3. Результати та їх обговорення.

3.1. Побудова спектру поглинання, визначення оптимальної довжини хвилі спектрофотометричних визначень.

Для визначення довжини хвилі, при якій спостерігається максимальне світлопоглинання сполуки мангану з формальдоксимом, та при якій проводитимуться подальші визначення, використовували приготовлений стандартний розчин № 5 з концентрацією йонів мангану 0,01 мг і проводили вимірювання його оптичної густини при довжинах хвиль 400-480 нм. Визначили оптимальну довжину хвилі λ , що відповідає максимуму на спектрі поглинання спектрофотометричного дослідження. Отримані результати визначень наведено у Таблиці 2 та Рис.3:

Таблиця 2. Побудова спектра поглинання

Довжина хвилі λ , нм	400	420	430	440	445	450	455	460	465	470	480
Оптична густина А	0,11	0,14	0,15	0,21	0,31	0,40	0,50	0,44	0,36	0,24	0,12

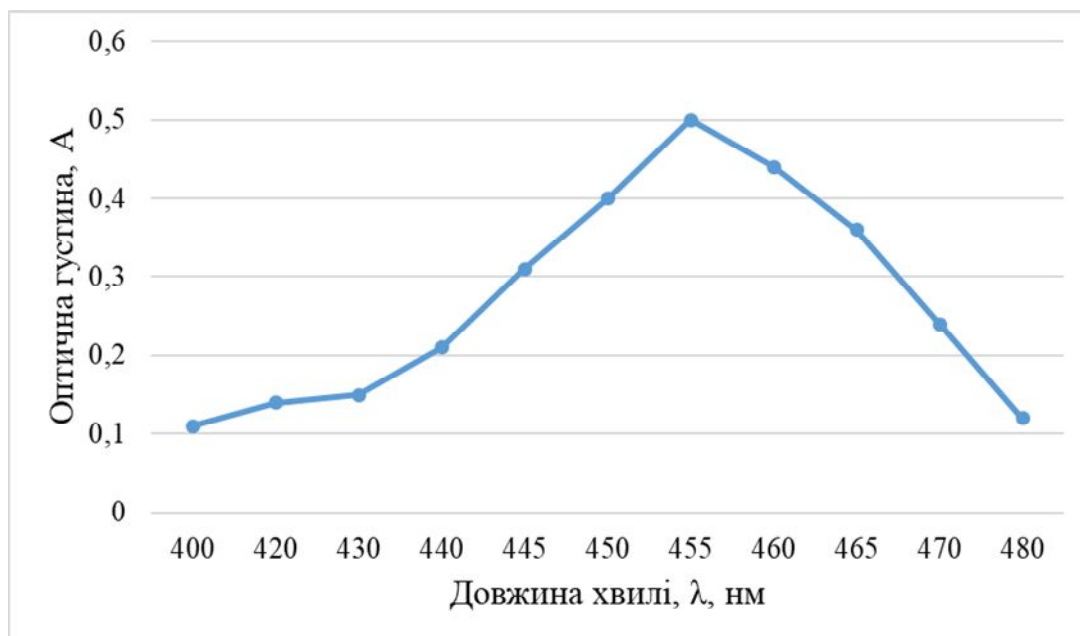


Рис.3. Спектр поглинання сполуки мангану з формальдоксимом

Отже, максимум світлопоглинання спостерігається при довжині хвилі $\lambda_{\max} = 455$ нм.

3.2. Побудова градуовального графіка. Перевірка методики на лінійність.

Щоб побудувати градуовальний графік залежності оптичної густини A від концентрації йонів мангану вимірювали оптичну густина розчинів № 1-10 серії стандартних розчинів відповідно до методики, яка наведена у п. 2.2. За результатами, отриманими під час вимірювань, будували графік залежності оптичної густини A від концентрації мангану цитрату в стандартних розчинах С. Результати вимірювань наведено у Таблиці 3 та на Рис. 4:

Таблиця 3. Залежність величини оптичної густини А від концентрації йонів мангану, мг.

№ розчину	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
С, мг	0,002	0,004	0,006	0,008	0,010	0,012	0,014	0,016	0,018	0,020
Оптична густина, А	0,1	0,2	0,3	0,39	0,50	0,59	0,69	0,78	0,86	0,94

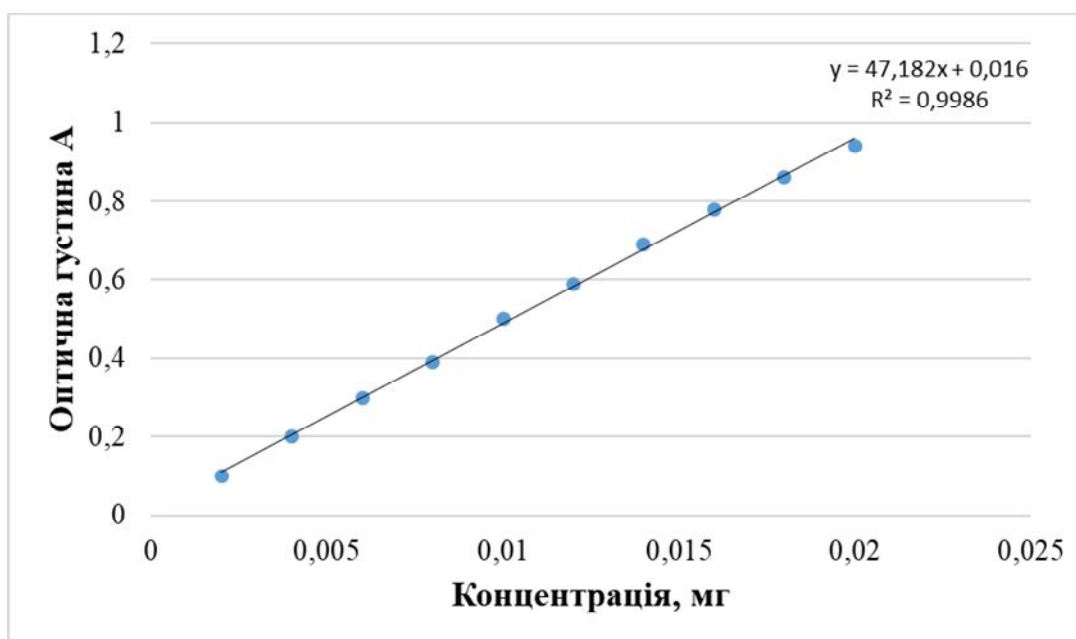


Рис 4. Градувальний графік

Перевірили методику на лінійність.

Маємо функцію лінійної регресії $y = 47,182 \cdot x + 0,016$ (коефіцієнт кореляції $R^2 = 0,9986$).

Розрахуємо стандартні відхилення та довірчі інтервали для коефіцієнтів лінійної регресії a та b . У даному випадку приймаємо загальний вигляд функції лінійної регресії як $y = b \cdot x + a$.

$$s_0^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{v} = 0,000129$$

$$s_b^2 = \frac{n \cdot s_0^2}{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} = 0,3898$$

$$s_a^2 = \frac{s_b^2}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 = 6,003 \cdot 10^{-5}$$

$$s_b = \sqrt{s_b^2} = 0,6243$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2} = 0,007748$$

Отже, стандартне відхилення для коефіцієнта a має значення 0,007748 для коефіцієнта b – 0,6243.

Для розрахунку довірчого інтервалу виписуємо значення коефіцієнта Стьюдента при довірчій ймовірності $P = 0,95$ та ступенях свободи $u = 8 - t(0,95,8) = 2,3060$.

Розраховуємо значення довірчого інтервалу для коефіцієнта a :

$$a \pm s_a \cdot t(0,95,8) = 0,016 \pm 0,018$$

Та для коефіцієнта b :

$$b \pm s_b \cdot t(0,95,8) = 47,182 \pm 1,440$$

Можемо зробити висновок, що методика лінійна в області концентрацій, які були взяті для аналізу та підпорядковується закону Бугера-Ламберта-Бера.

3.3. Кількісне визначення манган цитрату у дієтичних добавках.

Часткова валідація методу.

Щоб результати визначень були надійними та точними, необхідно здійснити валідацію методики кількісного визначення манган цитрату в дієтичних добавках [16, 17].

3.3.1. Перевірка методики на специфічність.

Методика кількісного визначення манган цитрату апробована на дієтичних добавках, які, крім самого манган цитрату, містять допоміжні

речовини, і, відповідно до отриманих результатів дослідження, кількість діючої речовини відповідає вказаній в інструкції до застосування. Отже, апробована нами методика може вважатися специфічною.

Результати кількісного визначення мангану цитрату у зразках дієтичних добавок, які ми досліджували, наведені у Таблицях 4 та 5.

3.3.2. Оцінка прецизійності та робасності.

Робасність методики, тобто надійність результатів при незначних змінах умов виконання аналізу, оцінювали ще при її розробці, коли встановлювали стабільність розчинів в часі. Встановлено, що розчин формальдоксиму при кімнатній температурі поступово перетворюється в полімер, тому його потрібно готувати безпосередньо перед використанням. Оцінку робасності здійснювали також, проводячи у різні дні аналіз досліджуваних зразків. Результати, отримані при цьому, наведені в Таблицях 4 та 5.

Прецизійністю методики називають це близькість (або розбіжність) результатів, отриманих, відповідно до даної методики, для серії визначень одного зразка на різних пробах [18]. Вона спричинюється випадковими похибками. Ми визначали у нашому дослідженні прецизійність на рівні збіжності. Для цього зважували три наважки і готували, відповідно, таку ж кількість розчинів, для кожного тричі вимірювали оптичну густину та розраховували вміст йонів мангану в досліджуваних зразках.

Таблиця 5. Результати кількісного визначення йонів мангану у Зразку 1.

№ проби	Зразок 1, знайдено Mn^{2+} у дієтичній добавці, враховуючи розведення, мг	
	День 1	День 2
1	9,91	9,98
2	9,96	9,98
3	10,03	9,96
4	9,97	10,03
5	10,04	9,98
Середнє значення,	9,98	9,99
Стандартне відхилення, s	0,0536	0,0261
Дисперсія, s^2	0,00287	0,000680
Відносне стандартне відхилення, %	0,54	0,26
Довірчий інтервал	$9,98 \pm 0,066$	$9,99 \pm 0,032$
Відносна похибка середнього значення, %	0,67	0,32

Зразок 1 містить 10 мг йонів мангану за інструкцією до застосування

Відносне стандартне відхилення RSD - ступінь розкиду результатів відносно середнього значення обчислюємо за формулою

$$RSD = s_r \cdot 100\%,$$

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}}, \text{ де } s - \text{стандартне відхилення}$$

$$RSD (\text{день 1}) = 0,54\%$$

$$RSD (\text{день 2}) = 0,26\%$$

Розраховуємо дисперсію за формулою

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{v},$$

де, \bar{x} – середнє значення, x_i – всі значення вибірки, v – число ступенів свободи, n – обсяг вибірки.

$$s^2 \text{ (день 1)} = 0,00287$$

$$s^2 \text{ (день 2)} = 0,000680$$

Розраховуємо також довірчий інтервал

$$\bar{x} \pm t_{p,v} \frac{s}{\sqrt{n}} = \bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}},$$

$t_{p,v}$ – коефіцієнт Стюдента, n – обсяг вибірки, s – стандартне відхилення, $\Delta_{\bar{x}}$ – напівширина довірчого інтервалу.

Вигляд довірчого інтервалу:

$$\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}} \text{ (день 1)} = (9,98 \pm 0,066)$$

$$\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}} \text{ (день 2)} = (9,99 \pm 0,032)$$

Дійсне значення вмісту (10 мг) потрапляє у довірчий інтервал, тому результати можна вважати правильними.

Відносна похибка середнього значення має значення:

$$\bar{\epsilon} = \frac{\Delta_{\bar{x}}}{\bar{x}} \cdot 100\%$$

$$\bar{\epsilon} \text{ (день 1)} = 0,67\%$$

$$\bar{\epsilon} \text{ (день 2)} = 0,32\%$$

Таблиця 5. Результати кількісного визначення йонів мангану у Зразку 2.

№ проби	Зразок 2, знайдено Mn^{2+} у дістичній добавці, враховуючи розведення, мг	
	День 1	День 2
1	8,01	7,98
2	8,01	7,99
3	7,98	7,98
4	7,96	8,02
5	7,96	7,96
Середнє значення,	7,98	7,99
Стандартне відхилення, s	0,0251	0,0219
Дисперсія, s^2	0,00063	0,00048
Відносне стандартне відхилення, %	0,31	0,27
Довірчий інтервал	$7,98 \pm 0,031$	$7,99 \pm 0,027$
Відносна похибка середнього значення, %	0,39	0,34

Згідно інструкції до застосування Зразок 2 містить 8 мг.

Дійсне значення вмісту (8 мг) потрапляє у довірчий інтервал, тому результати можна вважати правильними.

3.3.3. Правильність.

Правильність – характеристика ступеня близькості середнього значення, яке отримане з великої серії результатів вимірювань, до істинного значення величини, яка вимірюється. Показником правильності є значення систематичної похибки [19]. У випадку дослідження, проведеного нами, ми

порівнювали результати, отримані при спектрофотометричному визначенні вмісту сполук мангану в зразках, що досліджуються з його вмістом, відомим з інструкції для застосування. До того ж, оцінивши прецизійність, лінійність, робастність та специфічність, робимо висновок про правильність методики спектрофотометричного визначення сполук мангану в дієтичних добавках.

ВИСНОВКИ

- Здійснено аналіз літературних даних щодо фізико-хімічних та фармакологічних властивостей сполук мангану, їх ролі для організму людини.
- Проведено аналіз відомих методик ідентифікації та кількісного визначення сполук мангану.
- На основі проведених досліджень оптимізована методика кількісного визначення сполук мангану у дієтичних добавках спектрофотометричним методом аналізу.
- Здійснено часткову оцінку валідаційних характеристик даної методики кількісного визначення сполук мангану у дієтичних добавках спектрофотометричним методом аналізу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1318/mangan>
2. А.О. Бедзай, О.М. Щербина, І.О. Щербина, Б.М. Михалічко. Екологічний аналіз токсичного впливу сполук мангану на промислових і біологічних об'єктах. *Вісник ЛДУ БЖД №10, 2014, с. 179-183*
3. Fedchyshyn, M. P., & Korda, M. M. Токсичні ефекти марганцю. *Вісник наукових досліджень*, 2016., №3, с. 4-6. <https://doi.org/10.11603/2415-8798.2016.3.6956>
4. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://doctorthinking.org/2020/10/manganese/>
5. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://biovit.ua/ua/news/mineraly-statiy/mineral-marganec>
6. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://lpi.oregonstate.edu/mic/minerals/manganese>
7. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://ua.alfa-industry.com/material-chemicals/industrial-chemicals/cas-10024-66-5-manganese-ii-citrate.html>
8. Електронний ресурс. Режим доступу: <http://ua.fengchengroup.net/excipients/popular-excipients/manganese-citrate-decahydrate-bp-ep-usp-cas.html>
9. Аналітична хімія. Якісний аналіз: навчально-методичний посібник / Т.Д. Рева, О.М. Чхало, Г.М. Зайцева та ін. – К.: ВСВ «Медицина», 2017. – 280 с
10. European Pharmacopoeia. 7.0.– P. 2691 – 2692.
11. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://iprop-ua.com/inv/pdf/nnl7357d-description.pdf>
12. Електронний ресурс. Режим доступу: https://ozlib.com/878229/tehnika/spektrofotometriceskij_analiz

13. Аналітична хімія / В.В. Болотов, О.М. Свєчнікова, С.В. Колісник та ін. — Х., 2004
14. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://biotus.ua/ua/marganec-mn-zyme-biotics-research-10-mg-100-tabletok.html?srsltid=AfmBOopNqUU1AQKQs9avGWj6Ea9I7jNwt6vws8heRz1PO3YKvWcFQw4Z>
15. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://biohelp.com.ua/ua/p1682665186-marganets-aspartat-tsitrat.html>
16. Валідація аналітичних методик і випробувань. Державна Фармакопея України. Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е видання. Харків : РІПЕГ, 2001. С.58 – 67. Доповнення 1. 2004. С. 2 – 4.
17. Георгіянц В.А. Валідація аналітичних методик у фармації : теорія, нормативні аспекти, проблеми практики. В.А. Георгіянц, О.А. Євтіфєєва. *Фармацевтичний часопис*. 2007. №2. С.13 – 18.
18. Електронний ресурс. Режим доступу:
https://www.slideshare.net/anna_chem/ss-47510120
19. Електронний ресурс. Режим доступу:
[https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%80%D0%B0%D0%B2%D0%B8%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%96%D1%81%D1%82%D1%8C_\(%D0%B2%D0%B8%D0%BC%D1%96%D1%80%D1%8E%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8F\)](https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%80%D0%B0%D0%B2%D0%B8%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%96%D1%81%D1%82%D1%8C_(%D0%B2%D0%B8%D0%BC%D1%96%D1%80%D1%8E%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8F))

ДОДАТКИ

Додаток 1.

Мірний посуд класу А.



Додаток 2.

Витяг з Європейської Фармакопеї

Manganese gluconate

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 8.0

Sulfur dioxide (2.5.29): maximum 20 ppm.**Heavy metals** (2.4.8): maximum 10 ppm.Dilute 4 mL of solution S to 30 mL with *water R*. The solution complies with test E. Prepare the reference solution using 10 mL of *lead standard solution* (1 ppm Pb) *R*.**Loss on drying** (2.2.32): maximum 6.0 per cent, determined on 10.00 g by drying in an oven at 105 °C.**Sulfated ash** (2.4.14): maximum 0.5 per cent, determined on 1.0 g.**Dextrose equivalent** (DE): within 2 DE units of the nominal value.Weigh an amount of the substance to be examined equivalent to 2.85-3.15 g of reducing carbohydrates, calculated as dextrose equivalent, into a 500 mL volumetric flask. Dissolve in *water R* and dilute to 500.0 mL with the same solvent. Transfer the solution to a 50 mL burette.Pipette 25.0 mL of *cupri-tartaric solution R* into a 250 mL flask and add 18.5 mL of the test solution from the burette, mix and add a few glass beads. Place the flask on a hot plate, previously adjusted so that the solution begins to boil within 2 min ± 15 s. Allow to boil for exactly 120 s, add 1 mL of a 1 g/L solution of *methylene blue R* and titrate with the test solution (V_1) until the blue colour disappears. Maintain the solution at boiling throughout the titration.Standardise the cupri-tartaric solution using a 6.00 g/L solution of *glucose R* (V_0).

Calculate the dextrose equivalent using the following expression:

$$\frac{300 \times V_0 \times 100}{V_1 \times M \times D}$$

 V_0 = total volume of glucose standard solution, in millilitres; V_1 = total volume of test solution, in millilitres; M = sample mass, in grams; D = percentage content of dry matter in the substance.**Microbial contamination**TAMC: acceptance criterion 10^3 CFU/g (2.6.12).TYMC: acceptance criterion 10^2 CFU/g (2.6.12).Absence of *Escherichia coli* (2.6.13).Absence of *Salmonella* (2.6.13).

LABELLING

The label states the dextrose equivalent (DE) (= nominal value).

FUNCTIONALITY-RELATED CHARACTERISTICS

This section provides information on characteristics that are recognised as being relevant control parameters for one or more functions of the substance when used as an excipient (see chapter 5.15). This section is a non-mandatory part of the monograph and it is not necessary to verify the characteristics to demonstrate compliance. Control of these characteristics can however contribute to the quality of a medicinal product by improving the consistency of the manufacturing process and the performance of the medicinal product during use. Where control methods are cited, they are recognised as being suitable for the purpose, but other methods can also be used. Wherever results for a particular characteristic are reported, the control method must be indicated.

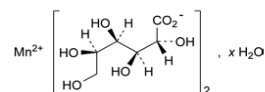
The following characteristics may be relevant for maltodextrin used as filler and binder in tablets and capsules.

Dextrose equivalent (see Tests).**Particle-size distribution** (2.9.31 or 2.9.38).**Powder flow** (2.9.36).

04/2008:2162

MANGANESE GLUCONATE

Mangani gluconas

 $C_{12}H_{22}MnO_{14} \cdot xH_2O$ M_r 445.2 (anhydrous substance)

DEFINITION

Anhydrous or hydrated manganese(II) D-gluconate.

Content: 98.0 per cent to 102.0 per cent (anhydrous substance).

CHARACTERS

Appearance: white or pale pink, slightly hygroscopic, crystalline powder.**Solubility**: soluble in water, practically insoluble in anhydrous ethanol, insoluble in methylene chloride.

IDENTIFICATION

A. Thin-layer chromatography (2.2.27).

Test solution. Dissolve 20 mg of the substance to be examined in 1 mL of *water R*.**Reference solution**. Dissolve 20 mg of *calcium gluconate CRS* in 1 mL of *water R*, heating if necessary in a water-bath at 60 °C.**Plate**: TLC silica gel plate *R* (5-40 μm) [or TLC silica gel plate *R* (2-10 μm)].**Mobile phase**: concentrated ammonia *R*, ethyl acetate *R*, water *R*, ethanol (96 per cent) *R* (10:10:30:50 V/V/V/V).**Application**: 1 μL.**Development**: over 3/4 of the plate.**Drying**: at 100-105 °C for 20 min, then allow to cool to room temperature.**Detection**: spray with a solution containing 25 g/L of ammonium molybdate *R* and 10 g/L of cerium sulfate *R* in dilute sulfuric acid *R*, and heat at 100-105 °C for about 10 min.**Results**: the principal spot in the chromatogram obtained with the test solution is similar in position, colour and size to the principal spot in the chromatogram obtained with the reference solution.B. Dissolve 50 mg in 5 mL of *water R*. Add 0.5 mL of ammonium sulfide solution *R*. A pale pink precipitate is formed that dissolves upon the addition of 1 mL of glacial acetic acid *R*.

TESTS

Solution S. Dissolve 1.0 g in *water R* and dilute to 50 mL with the same solvent.**Appearance of solution**. Solution S is not more opalescent than reference suspension II (2.2.1) and not more intensely coloured than intensity 6 of the range of reference solutions of the most appropriate colour (2.2.2, Method II).**Sucrose and reducing sugars**. Dissolve 0.5 g in a mixture of 2 mL of hydrochloric acid *R1* and 10 mL of *water R*. Boil for 5 min, allow to cool, add 10 mL of sodium carbonate solution *R* and allow to stand for 10 min. Dilute to 25 mL with *water R* and filter. To 5 mL of the filtrate add 2 mL of cupri-tartaric solution *R* and boil for 1 min. Allow to stand for 2 min. No red precipitate is formed.**Chlorides** (2.4.4): maximum 500 ppm.Dilute 5 mL of solution S to 15 mL with *water R*.

Sulfates (2.4.13): maximum 500 ppm.

Dissolve 2.0 g in a mixture of 10 mL of *acetic acid R* and 90 mL of *distilled water R*.

Zinc: maximum 50 ppm.

To 10 mL of solution S add 1 mL of *sulfuric acid R* and 0.1 mL of *potassium ferrocyanide solution R*. After 30 s, any opalescence in the solution is not more intense than that in a mixture of 1.0 mL of *zinc standard solution (10 ppm Zn) R*, 9 mL of *water R*, 1 mL of *sulfuric acid R* and 0.1 mL of *potassium ferrocyanide solution R*.

Heavy metals (2.4.8): maximum 10 ppm.

Dissolve 2.0 g in 20 mL of *water R*, heating in a water-bath at 60 °C. 12 mL of the solution complies with test A. Prepare the reference solution using *lead standard solution (1 ppm Pb) R*.

Water (2.5.32): maximum 9.0 per cent, determined on 80 mg.

Microbial contamination. Total viable aerobic count (2.6.12) not more than 10⁵ micro-organisms per gram, determined by plate count.

ASSAY

Dissolve 0.400 g in 50 mL of *water R*. Add 10 mg of *ascorbic acid R*, 20 mL of *ammonium chloride buffer solution pH 10.0 R* and 0.2 mL of a 2 g/L solution of *mordant black 11 R* in *triethanolamine R*. Titrate with 0.1 M *sodium edetate* until the colour changes from violet to pure blue.

1 mL of 0.1 M *sodium edetate* is equivalent to 44.52 mg of C₁₂H₂₂MnO₁₄.

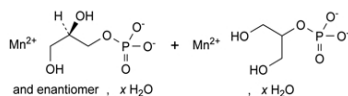
STORAGE

In a non-metallic, airtight container.

01/2008:2163
corrected 6.4

MANGANESE GLYCEROPHOSPHATE, HYDRATED

Mangani glycerophosphas hydricus



C₃H₇MnO₆P_xH₂O

M_r 225.0 (anhydrous substance)

DEFINITION

Mixture of variable proportions of hydrated manganese(II) (2*RS*)-2,3-dihydroxypropyl phosphate and hydrated manganese(II) 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl phosphate.

Content: 97.0 per cent to 102.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or pale pink, hygroscopic powder.

Solubility: practically insoluble in water and in ethanol (96 per cent). It is freely soluble in dilute mineral acids.

IDENTIFICATION

- Mix 1 g with 1 g of *potassium hydrogen sulfate R* in a test tube fitted with a delivery tube. Heat strongly and direct the white vapour towards a piece of filter paper impregnated with a freshly prepared 10 g/L solution of *sodium nitroprusside R*. The filter paper develops a blue colour in contact with *piperidine R*.
- Disperse 50 mg in 5 mL of *water R*. Add 0.5 mL of *ammonium sulfide solution R*. A pale pink precipitate is formed that dissolves on the addition of 1 mL of *acetic acid R*.

C. Ignite 0.1 g in a crucible. Take up the residue with 5 mL of *nitric acid R* and heat on a water-bath for 1 min. Filter. The filtrate gives reaction (b) of phosphates (2.3.1).

TESTS

Solution S. Dissolve 5.0 g in 20 mL of *dilute hydrochloric acid R*. Filter if necessary. Add *dilute ammonia R1* until a precipitate is formed. Dissolve the precipitate by adding the minimum quantity needed of *dilute hydrochloric acid R* and dilute to 100 mL with *distilled water R*.

Glycerol and ethanol (96 per cent)-soluble substances: maximum 1.0 per cent.

Shake 1.00 g with 25 mL of *ethanol (96 per cent) R* for 1 min. Filter. Evaporate the filtrate to dryness on a water-bath and dry the residue at 70 °C for 1 h. The residue weighs a maximum of 10 mg.

Chlorides (2.4.4): maximum 0.15 per cent.

Dissolve 0.22 g in a mixture of 1 mL of *nitric acid R* and 10 mL of *water R* and dilute to 100 mL with *water R*.

Phosphates (2.4.11): maximum 0.3 per cent.

Dilute 1.0 mL of solution S to 100.0 mL with *water R*. To 10 mL of this solution add 140 mL of *water R*.

Sulfates (2.4.13): maximum 0.2 per cent.

Dilute 5 mL of solution S to 50 mL with *distilled water R*.

Iron (2.4.9): maximum 50 ppm.

Dilute 4 mL of solution S to 10 mL with *water R*.

Heavy metals (2.4.8): maximum 20 ppm.

12 mL of solution S complies with test A. Prepare the reference solution using *lead standard solution (1 ppm Pb) R*.

Loss on drying (2.2.32): maximum 12.0 per cent, determined on 1.000 g by drying in an oven at 105 °C for 4 h.

ASSAY

To 0.200 g add 1.5 mL of 1 M *hydrochloric acid*, 50 mL of *water R*, 10 mg of *ascorbic acid R* and 20 mL of *ammonium chloride buffer solution pH 10.0 R*. Stir until dissolution. Immediately add 0.3 mL of a 2 g/L solution of *mordant black 11 R* in *triethanolamine R* and titrate with 0.1 M *sodium edetate* until the colour changes from violet to pure blue.

1 mL of 0.1 M *sodium edetate* is equivalent to 22.50 mg of C₃H₇MnO₆P.

STORAGE

In an airtight container.

01/2008:1543
corrected 6.0

MANGANESE SULFATE MONOHYDRATE

Mangani sulfas monohydricus

MnSO₄·H₂O
[10034-96-5]

M_r 169.0

DEFINITION

Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (ignited substance).

CHARACTERS

Appearance: pale pink crystalline powder, slightly hygroscopic.

Solubility: freely soluble in water, practically insoluble in ethanol (96 per cent).

IDENTIFICATION

A. Solution S (see Tests) gives reaction (a) of sulfates (2.3.1).

B. Dissolve 50 mg in 5 mL of *water R*. Add 0.5 mL of *ammonium sulfide solution R*. A pale pink precipitate is formed which dissolves on the addition of 1 mL of *anhydrous acetic acid R*.

C. Loss on ignition (see Tests).

TESTS

Solution S. Dissolve 10.0 g in *distilled water R* and dilute to 100 mL with the same solvent.

Appearance of solution. Solution S is not more opalescent than reference suspension II (2.2.1).

Chlorides (2.4.4): maximum 100 ppm.

Dilute 5 mL of solution S to 15 mL with *water R*.

Iron (2.4.9): maximum 10 ppm, determined on solution S.

Zinc: maximum 50 ppm.

To 10 mL of solution S add 1 mL of *sulfuric acid R* and 0.1 mL of *potassium ferrocyanide solution R*. After 30 s, any opalescence in the solution is not more intense than that in a mixture of 5 mL of *zinc standard solution (10 ppm Zn) R*, 5 mL of *water R*, 1 mL of *sulfuric acid R* and 0.1 mL of *potassium ferrocyanide solution R*.

Heavy metals (2.4.8): maximum 20 ppm.

12 mL of solution S complies with test A. Prepare the reference solution using *lead standard solution (2 ppm Pb) R*.

Loss on ignition: 10.0 per cent to 12.0 per cent, determined on 1.00 g at 500 ± 50 °C.

ASSAY

Dissolve 0.150 g in 50 mL of *water R*. Add 10 mg of *ascorbic acid R*, 20 mL of *ammonium chloride buffer solution pH 10.0 R* and 0.2 mL of a 2 g/L solution of *mordant black 11 R* in *triethanolamine R*. Titrate with 0.1 M *sodium edetate* until the colour changes from violet to pure blue.

1 mL of 0.1 M *sodium edetate* is equivalent to 15.10 mg of MnSO_4 .

Dissolve 2.00 g of the substance to be examined and 2.6 g of *disodium tetraborate R* in about 20 mL of *water R* at 30 °C; shake continuously for 15-30 min without further heating. Dilute the resulting clear solution to 25.0 mL with *water R*.

B. Melting point (see Tests). \diamond

C. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: *mannitol CRS*.

If the spectra obtained in the solid state show differences, dissolve separately in 2 glass vials 25 mg of the substance to be examined and 25 mg of the reference substance in 0.25 mL of *distilled water R* without heating. The solutions obtained are clear. Evaporate to dryness by heating in a microwave oven with a power range of 600-700 W for 20 min or by heating in an oven at 100 °C for 1 h then gradually applying vacuum until a dry residue is obtained. Non-sticky, white or slightly yellowish powders are obtained. Record new spectra using the residues.

\diamond D. Thin-layer chromatography (2.2.27).

Test solution. Dissolve 25 mg of the substance to be examined in *water R* and dilute to 10 mL with the same solvent.

Reference solution (a). Dissolve 25 mg of *mannitol CRS* in *water R* and dilute to 10 mL with the same solvent.

Reference solution (b). Dissolve 25 mg of *mannitol R* and 25 mg of *sorbitol R* in *water R* and dilute to 10 mL with the same solvent.

Plate: TLC silica gel plate R.

Mobile phase: *water R*, *ethyl acetate R*, *propanol R* (10:20:70 V/V/V).

Application: 2 μ L.

Development: over 2/3 of the plate.

Drying: in air.

Detection: spray with 4-aminobenzoic acid solution R and dry in a current of cold air until the acetone is removed; heat at 100 °C for 15 min, allow to cool then spray with a 2 g/L solution of *sodium periodate R*; dry in a current of cold air and heat at 100 °C for 15 min.

System suitability: reference solution (b):

– the chromatogram shows 2 clearly separated spots.

Results: the principal spot in the chromatogram obtained with the test solution is similar in position, colour and size to the principal spot in the chromatogram obtained with reference solution (a). \diamond

TESTS

Appearance of solution. The solution is clear (2.2.1) and colourless (2.2.2, *Method II*).

Dissolve 5.0 g in *water R* and dilute to 50 mL with the same solvent.

Conductivity (2.2.38): maximum 20 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Dissolve 20.0 g in *carbon dioxide-free water R* prepared from *distilled water R* by heating at 40-50 °C and dilute to 100.0 mL with the same solvent. After cooling, measure the conductivity of the solution while gently stirring with a magnetic stirrer.

Melting point (2.2.14): 165 °C to 170 °C.

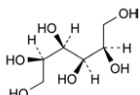
Reducing sugars: maximum 0.1 per cent (calculated as glucose equivalent).

To 7.0 g add 13 mL of *water R*. Boil gently with 40 mL of *cupri-tartaric solution R* for 3 min, and allow to stand for 2 min. A precipitate is formed. Filter through a sintered-glass filter (16) (2.1.2) coated with *diatomaceous earth R* or a sintered-glass filter (10) (2.1.2). Wash the precipitate with hot *water R* (about 50-60 °C) until the washing is no longer alkaline, and filter the washings through the same sintered-glass filter. Discard the filtrate. Immediately dissolve

01/2014:0559

MANNITOL⁽²⁾

Mannitolum



$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$
[69-65-8]

M_r 182.2

DEFINITION

D-Mannitol.

Content: 97.0 per cent to 102.0 per cent (anhydrous substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white crystals or powder.

Solubility: freely soluble in water, practically insoluble in ethanol (96 per cent).

It shows polymorphism (5.9). \diamond

IDENTIFICATION

First identification: C.

\diamond **Second identification:** A, B, D.

A. Specific optical rotation (2.2.7): + 23 to + 25 (anhydrous substance).

(2) This monograph has undergone pharmacopoeial harmonisation. See chapter 5.8. *Pharmacopoeial harmonisation*.

Додаток 3.
Спектрофотометр Jenway 6305 (Велика Британія).



Діапазон довжин хвиль	від 198 до 1000 нм
Дозвіл довжини хвилі	1 нм
Точність довжини хвилі	± 2 нм
Коефіцієнт пропускання	від 0 до 199,9%
Поглинання	-0,300 до 1,999A
Точність	$\pm 1\%$ T, $\pm 0,01$ Abs при 1000 поглинання
Роздільна здатність	0,1% T, 0,001A
Стабільність	1% / год після 20-хвилинного нагрівання
Діапазон концентрацій	-300 до 1999
Дозвіл концентрації	1 / 0,1
Потужність	<50 Вт

Додаток 4
рН-метр рН -150 МІ



Характеристики:

Діапазон рН 1,00 – 14,00

Дискретність 0,01

Похибка перетворювача $\pm 0,02$

Похибка приладу $\pm 0,05$

Додаток 5.
Сертифікат учасника конференції.



СЕРТИФІКАТ

№16/2025.S2.05

Цим засвідчується, що

Добровольська О.О.

з постерною доповіддю

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ СПЛУК МАНГАНУ В ДІЄТИЧНИХ ДОБАВКАХ

брала участь V Науково-практичної конференції з міжнародною участю

«PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА»

присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, професорки Ніни Павлівни Максіютої (до 100-річчя від дня народження) в онлайн форматі

28-29 січня 2025 р., м. Київ, Україна



PLANTA+
НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА

Конференція зареєстрована у ДНУ «Український інститут науково-технічної експертизи та інформації» (Повіднення УкрІНТЕІ № 621 від 13 листопада 2024 р.)

Ректор Національного медичного університету
імені О. О. Богомольця, д. м. н., професор

Завідувачка кафедри фармакогнозії та ботаніки,
д. б. н., професор



Юрій КУЧИН

Валентина МІНАРЧЕНКО

Активация Wi

SUMMARY

Olena Dobrovolska

Topic: «Optimisation of the method of quantitative determination of manganese compounds in dietary supplements by spectrophotometric analysis»

Department of analytical, physical and colloid chemistry

Scientific supervisor: Oksana Chkhalo

Keywords: manganese, spectrophotometry, dietary supplements, validation.

Introduction. Manganese is one of the most vital trace elements for the human body. It plays an important role in the formation and growth of bone tissue, the functioning of the brain and nervous system, and is involved in energy metabolism. It is necessary for many physiological processes, is a part of a large number of enzymes, activates other enzymes that are necessary for the metabolism of carbohydrates, fats, cholesterol, amino acids. Manganese is involved in the synthesis of glucose in the process of gluconeogenesis, regulates the secretion of hormones, and promotes regeneration. The deficiency of this trace element in the body causes disruption of many important functions, including impaired bone development, increases the risk of osteoporosis and rheumatoid arthritis, causes muscle and joint pain, disrupts wound healing, and much more.

However, manganese compounds are quite toxic and poisoning with them causes irritation of the mucous membranes of the eyes and respiratory tract, shortness of breath, weakness, and central nervous system disorders, so controlling the concentration of manganese compounds in dietary supplements is one of the most important tasks.

Materials and methods. Objects of study - dietary supplements containing manganese compounds. Method - spectrophotometry.

Results. After analysing the literature data, it was found that there are many methods for the quantitative determination of manganese compounds in various objects, namely: titrimetric methods of analysis (complexometry, permanganometry, bromatometry), potentiometric and amperometric titration,

photometric methods based on the oxidation of manganese (II) compounds to permanganate, and others.

We have carried out the quantitative determination of manganese compounds in dietary supplements by the spectrophotometric method of analysis using the reaction with formaldehyde. The optical density was measured at a wavelength of 455 nm, which was determined by plotting the absorption spectrum of a standard solution of manganese citrate. Dietary foods containing manganese (II) compounds were selected for the study. After appropriate sample preparation of each sample and the addition of formaldehyde, the optical density of the resulting solutions was measured. The content of manganese compounds in the studied samples was determined according to the calibration chart. By analysing the data obtained and performing a partial validation of the method, it was established that the validation characteristics meet the acceptance criteria according to the SFC. Therefore, this method can be used for the quantitative determination of manganese compounds in dietary supplements.

Conclusions. The proposed method is an alternative method for the quantitative determination of manganese compounds in dietary supplements by spectrophotometry.